

FORMULASI NANOPARTIKEL EKSTRAK BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) DENGAN VARIASI KONSENTRASI KITOSAN-TRIPOLIFOSFAT (TPP)

Ermina Pakki, Sumarheni, Aisyah F, Ismail, Syarfina Safirahidzni

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

ABSTRAK

Ekstrak etanol Bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr.) diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sistem penghantaran nanopartikel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi kitosan – tripolifosfat (TPP) terhadap karakteristik fisik dari nanopartikel. Ekstrak bawang dayak diformulasi dalam bentuk nanopartikel dengan metode gelasi ionik dengan variasi konsentrasi polimer kitosan : tripolifosfat yaitu 0,5% : 0,5% (F1), 0,75% : 0,5% (F2), dan 1% : 0,5% (F3). Parameter pengujian meliputi penentuan ukuran dan indeks polidispersitas nanopartikel menggunakan *particle size analyzer*, pengamatan morfologi menggunakan *scanning electron microscopy*, pengukuran efisiensi penjerapan, dan disolusi *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nanopartikel F1, F2, dan F3 memiliki ukuran masing-masing sebesar 256,30 nm, 376,28 nm dan 419,18 nm dengan distribusi ukuran yang relatif homogen dan efisiensi penjerapan masing-masing sebesar 69,54%, 77,51% dan 79,79%. Pengamatan morfologi dari nanopartikel menunjukkan bentuk partikel yang mendekati spheris (bulat) dengan permukaan yang kasar. Profil pelepasan obat dari nanopartikel F1, F2, dan F3 pada jam ke-8 masing-masing sebesar 71,19 % (F1), 74,97% (F2) dan 80,55% (F3). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bawang dayak dapat diformulasi dalam ukuran nanopartikel dengan karakteristik fisik yang bervariasi tergantung pada konsentrasi kitosan dan tripolifosfat yang digunakan.

Kata Kunci: Bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr.), antioksidan, nanopartikel, kitosan, tripolifosfat, gelasi ionik.

ABSTRACT

Bawang dayak (Eleutherine americana (Aubl) Merr.) ethanol extract had been known to have excellent antioxidant activity that has the potential to be developed into a nanoparticle delivery systems. This study aims to determine the effect of varying concentrations of chitosan - tripolyphosphate (TPP) to the physical characteristics of nanoparticles. Bawang dayak extract formulated in the form of nanoparticles with an ionic gelation method and using polymers chitosan - tripolyphosphate varying concentration as 0.5% : 0.5% (F1), 0.75% : 0.5% (F2), and 1% : 0.5% (F3). The measured parameters were determining particle size and polydispersity index using particle size analyzer, observation of particle morph using scanning electron microscopy, measurement of entrapment efficiency and dissolution in vitro. The result showed that the average size of nanoparticle F1, F2, and F3 respectively is 256.30 nm, 376 nm and 419.18 nm with entrapment efficiency respectively is 69.54% (F1),

77.51% (F2) and 79.79% (F3) with a relatively homogenous size distribution and entrapment efficiencies respectively is 69.54%, 77.51% and 79.79%. Observation of morphology of the nanoparticles shows the particle shape is almost sphere (spherical) with a rough surface. The profile of drug release from the nanoparticles F1, F2, and F3 in 8 hours respectively is 71.19% (F1), 74.97% (F2) and 80.55% (F3). Based on this study, it was concluded that the ethanol extract of bawang dayak can be formulated into nanoparticles with different physical characteristics based on the ratio of polymer chitosan and tripolyphosphate used.

Keywords: Bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr.), nanoparticles, chitosan, tripolyphosphate, ionic gelation.

1 PENDAHULUAN

Bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) secara tradisional telah digunakan sebagai antidiabetes (1), antiinflamasi (2), antimikroba (3), dan antikanker (4). Selain itu, bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) juga merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan tanin yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (5). Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% umbi bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) yang berasal dari Malino, Kabupaten Gowa memiliki kandungan fenolik total sebesar 6,37 %b/b dan aktivitas antiradikal bebas yang tergolong kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 22,63 µg/ml (6). Sedangkan ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr.) yang berasal dari Banjarbaru memiliki nilai rata-rata IC₅₀ sebesar 25,33 µg/mL (2). Berdasarkan hal tersebut, bawang dayak memiliki potensi yang sangat besar untuk dijadikan sebagai bahan obat.

Dasar pertimbangan pada pengembangan teknologi untuk terapi farmasetis terdiri dari tiga faktor utama yaitu menciptakan sistem yang efektif (*effectiveness*), menekan efek bahaya pada sistem jika diaplikasikan (*safety*), dan membuat agar sistem dapat diterima dengan baik oleh pasien (*acceptability*). Maka dari itu, dikembangkan berbagai macam sistem penghantaran untuk obat

dari bahan alam. Di antara berbagai jenis sistem penghantaran tersebut, para peneliti banyak menggunakan sistem penghantaran nanopartikel karena berbagai keuntungan antara lain yaitu ukuran partikel dan karakteristik permukaan nanopartikel dapat dengan mudah dimodifikasi sesuai kebutuhan, nanopartikel dapat mengontrol dan mempertahankan pelepasan senyawa aktif selama transportasi sehingga mengurangi efek samping, pelepasan senyawa aktif terkontrol, serta kandungan senyawa aktif dapat dimasukkan ke dalam sistem tanpa reaksi kimia yang menjadi faktor penting untuk menjaga aktivitas senyawa (7, 8).

Pembuatan nanopartikel dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya dengan metode gelasi ionik. Pada teknik gelasi ionik, dilakukan pencampuran antara polimer yang bersifat polikation dengan polianion. Polimer polikation yang umum digunakan adalah kitosan karena memiliki sifat yang tidak beracun, *biocompatible*, *biodegradable* dan mudah dimodifikasi secara kimia. Sedangkan polimer polianion yang umum digunakan adalah zat yang dapat berfungsi sebagai pengikat silang yang baik misalnya tripolifosfat (TPP). Dengan adanya penambahan TPP, kekuatan mekanik gel kitosan dapat meningkat sebab TPP memiliki rapat muatan negatif yang tinggi sehingga interaksi dengan polikation kitosan akan lebih besar (9, 10). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pembentukan nanopartikel dengan kitosan dan TPP sebagai polimer dapat menghasilkan

nanopartikel dengan stabilitas yang baik (11). Konsentrasi polimer kitosan dan tripolifosfat (TPP) yang digunakan dapat mempengaruhi karakteristik dari nanopartikel yang terbentuk (12, 13) dan juga mempengaruhi nilai dari efisiensi penyerapannya (14).

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi polimer kitosan - tripolifosfat (TPP) terhadap karakteristik fisik nanopartikel ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr).

2 METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas (Pyrex[®]), *dissolution tester* (Electrolab[®]), *freeze dryer* (CoolSafe[™]), homogenizer (Ultra Turrax[®]), *magnetic stirrer* (IKA[®] MIDI MR1), *micropipet* (Thermo[®]), oven (J.P.Selecta[®]), *Particle Size Analyzer* (VASCO Flex[™]), pH meter (Sartorius[®]), *rotary evaporator* (Buchi[®]), *Scanning Electron Microscope* (Tescan[®]), *microplate reader* (Biotec[®]), sonikator (Elmasonic[®]), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu[®] UV-1800) dan timbangan analitik (Sartorius[®] CP 224 S).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu asam askorbat, asam asetat, asam galat, *air suling*, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (*sigma aldrich*[®]), *etanol 96%*, *kalium dihidrogen fosfat*, *kitosan* (*sigma aldrich*[®]), *natrium hidroksida*, *natrium karbonat*, *polysorbat 80* (*bratako*[®]), pereaksi folin-ciocalteu, *natrium tripolifosfat* (*bratako*[®]), *umbi bawang dayak* (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr).

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Penyiapan Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah umbi bawang dayak

(*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) yang diperoleh dari Malino, Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan.

2.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel berupa umbi bawang dayak, dicuci bersih dengan air mengalir. Sampel yang sudah bersih dikupas-kupas kecil dan dikeringkan pada oven simplisia pada suhu 50°C. Sampel yang telah kering kemudian dirajang.

2.2.3 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dan dibantu dengan proses sonikasi selama 30 menit menggunakan pelarut etanol 96%. Simplisia umbi bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) dimasukkan ke dalam wadah maserasi bersama cairan etanol 96%, kemudian ditutup rapat. Wadah maserasi dimasukkan ke dalam sonikator dan disonikasi selama 30 menit, ekstrak yang diperoleh dipisahkan dan dilakukan remaserasi menggunakan pelarut yang sama. Ekstrak cair yang diperoleh dari tiap-tiap proses ekstraksi dikumpulkan, kemudian diuapkan cairan penyari dengan menggunakan *rotary evaporation* hingga didapatkan ekstrak kental.

2.2.4 Penentuan Kadar Fenolik Total

2.2.4.1 Pembuatan Larutan Stok Asam Galat

Ditimbang asam galat sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan dapar fosfat pH 7,4 hingga 10 ml (konsentrasi 1000 bpj). Kemudian dari larutan tersebut, dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml dengan dapar fosfat pH 7,4 (konsentrasi 100 bpj).

2.2.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Sebanyak 0,25 ml larutan stok asam galat dipipet dan dicukupkan

volumenya hingga 5 ml dalam labu tentukur. Kemudian ditambahkan 0,1 ml pereaksi Folin-Ciocalteu dan 0,1 ml Na_2CO_3 7,5%, dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 5 ml dengan dapar fosfat pH 7,4. Campuran tersebut dibiarkan selama 30 menit. Kemudian serapannya diukur pada panjang gelombang 400-800 nm.

2.2.4.3 Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Dibuat satu seri larutan asam galat dengan konsentrasi 1,2, 3, 4, 5, 6 dan 7 bpj, dengan cara dipipet larutan stok masing-masing sebanyak 50, 100, 150, 200, 250, 300 dan 350 μl , dimasukkan ke dalam labu tentukur, kemudian ditambahkan 0,1 ml pereaksi Folin-Ciocalteu dan 0,1 ml Na_2CO_3 7,5% lalu dicukupkan volumenya hingga 5 ml dengan dapar fosfat pH 7,4. Campuran tersebut didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum, kemudian dibuat kurva baku hubungan antara konsentrasi asam galat dengan serapan.

2.2.4.4 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak

Ekstrak bawang dayak ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 1 ml etanol 96 % dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml dalam labu tentukur dengan larutan dapar fosfat pH 7,4, sehingga diperoleh larutan stok 1000 bpj.

2.2.4.5 Pengujian Kadar Fenolik Total

Sebanyak 0,3 ml larutan ekstrak dipipet dari larutan stok dan ditambahkan sebanyak 0,1 ml pereaksi Folin-Ciocalteu dan 0,1 ml Na_2CO_3 7,5 %, kemudian volume dicukupkan hingga 5 ml dalam labu tentukur dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 dan campuran

didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar (suhu 15-30°C). Setelah itu, ditetapkan kadarnya dengan mengukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 673,6 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian dihitung kadar fenolik total dari sampel dengan bantuan kurva baku. Kadar fenolik total dinyatakan sebagai sejumlah mg ekuivalen asam galat (EAG)/g sampel.

2.2.5 Penentuan Kadar Antioksidan

2.2.5.1 Pembuatan Larutan 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) 240 μM

DPPH (394,32 g/mol) ditimbang sebanyak 1 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol p.a hingga volume 10 ml dalam labu tentu ukur.

2.2.5.2 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak

Ekstrak umbi bawang dayak ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 1 ml etanol 96 % dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml dalam labu tentukur dengan etanol p.a (konsentrasi 1000 bpj).

2.2.5.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel

Larutan stok ekstrak masing-masing dipipet sebanyak 4 μl , 8 μl , 12 μl , 16 μl dan 20 μl ke dalam *microplate*, lalu masing-masing ditambahkan 75 μl DPPH 240 μM dengan menggunakan mikropipet *multichannel* dan volume campuran dicukupkan sehingga 200 μl dengan pelarut etanol p.a, sehingga didapatkan seri konsentrasi 20 bpj, 40 bpj, 60 bpj, 80 bpj dan 100 bpj. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515 nm dengan menggunakan *microplate reader*, sebagai blanko larutan DPPH 240

μM dipipet sebanyak 75 μl kemudian ditambahkan 125 μl etanol p.a. Untuk pembandingan digunakan asam askorbat dengan konsentrasi 2,5 bpj, 5 bpj, 7,5 bpj, 10 bpj dan 12,5 bpj. Aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dinyatakan dengan persen inhibisi, dan dihitung dengan rumus yaitu:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan blanko}} \times 100\%$$

Persen inhibisi yang dihasilkan oleh masing-masing konsentrasi ekstrak umbi bawang dayak, kemudian ditabulasi dan dihitung nilai IC₅₀.

2.2.6 Preparasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak

Tabel 1. Formula nanopartikel ekstrak bawang dayak

Bahan	F1	F2	F3
Ekstrak Bawang Dayak	1000 mg	1000 mg	1000 mg
Larutan Kitosan 0,5 %	100 ml	-	-
Larutan Kitosan 0,75 %	-	100 ml	-
Larutan Kitosan 1 %	-	-	100 ml
Larutan TPP 0,5 %	20 ml	30 ml	40 ml
Polysorbat 80	1 ml	1 ml	1 ml

2.2.6.1 Pembuatan Larutan Kitosan

Kitosan ditimbang masing-masing sebanyak 0,5 gram, 0,75 gram dan 1 gram dengan menggunakan kaca arloji, kemudian kitosan dilarutkan dengan larutan asam asetat 5 %v/v hingga 100 ml dan diaduk dengan pengaduk magnetik hingga larut.

2.2.6.2 Pembuatan larutan TPP

Tripolifosfat (TPP) ditimbang masing-masing sebanyak 0,1 gram, 0,15 gram dan 0,2 gram kemudian dilarutkan masing-masing dengan air suling hingga 20 ml, 30 ml, dan 40 ml kemudian diaduk dengan pengaduk magnetik hingga larut.

2.2.6.3 Penyiapan Ekstrak Umbi Bawang Dayak

Sebanyak 0,1 gram ekstrak umbi bawang dayak ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96 % sebanyak 5 ml dan dilakukan sonikasi selama 10 menit.

2.2.6.4 Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak

Masing-masing larutan kitosan 0,5 %, 0,75 % dan 1 % dimasukkan ke dalam gelas kimia sebanyak 100 ml. Kemudian pada masing-masing konsentrasi larutan ditambahkan polysorbat 80 sebanyak 1 ml dan diaduk dengan menggunakan homogenizer dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, pada larutan kitosan 0,5 %, 0,75 % dan 1 % dimasukkan masing-masing 0,1 g ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) dan diaduk dengan menggunakan homogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Setelah itu, kedalam larutan kitosan 0,5 %, 0,75% dan 1 % masing-masing ditambahkan larutan TPP 0,5 % sebanyak 20 ml, 30 ml dan 40 ml, lalu dihomogenizer pada kecepatan 4000 rpm selama 90 menit. Campuran yang diperoleh kemudian didiamkan selama 1 x 24 jam dan kemudian diliofilisasi (*freeze-drying*) untuk mendapatkan nanopartikel

kering dan diuji karakterisasinya dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

2.2.7 Pengukuran Efisiensi Penjerapan

Nanopartikel yang diperoleh juga dianalisis secara kuantitatif kandungan polifenol totalnya untuk menentukan efisiensi penjerapan dari nanopartikel. Nanopartikel ekstrak umbi bawang dayak dari ketiga formula, masing-masing ditimbang seksama setara dengan sebanyak 10 mg ekstrak kemudian masing-masing dilarutkan dengan 1 ml etanol 96 % dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 (1000 bpj). Selanjutnya masing-masing diambil 0,3 ml dari larutan stok, ditambahkan 0,1 ml pereaksi Folin-Ciocalteu dan 0,1 ml Na₂CO₃ 7,5% kemudian dicukupkan volumenya dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sampai 5 mL dan dihomogenkan. Campuran tersebut didiamkan selama 30 menit kemudian ditetapkan kadarnya dengan mengukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 673,6 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Efisiensi penjerapan nanopartikel dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Ep(\%) = \frac{\text{Kadar fenolik nanopartikel}}{\text{Kadar fenolik ekstrak}} \times 100\%$$

2.2.8 Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak

2.2.8.1 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan cara mencelupkan elektroda ke dalam suspensi nanopartikel F1, F2 dan F3.

2.2.8.2 Morfologi Partikel

Nanopartikel yang dihasilkan, dikarakterisasi dengan menggunakan instrumen *Scanning Electron Microscope*

(Vega3 Tescan®). Nanopartikel ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) di *coating* dengan logam emas menggunakan *fine coater* (Quantum®) di bawah vakum. Sampel kemudian diuji dan diamati bentuk partikel dan permukaannya.

2.2.8.3 Ukuran Partikel

Ukuran partikel dari nanopartikel ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) diukur dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (VASCO Flex™).

2.2.8.4 Uji Disolusi In Vitro

Sebanyak 0,5 gram nanopartikel ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) di disolusi dalam 900 mL larutan dapar fosfat pH 7,4 menggunakan alat disolusi tipe 2 pada suhu 37±0,5°C, dengan kecepatan putaran pengadukan adalah 100 rpm selama 8 jam. Sebanyak 10 ml alikuot dicuplik pada menit ke- 30, 60, 120, 240, dan 480. Setiap kali pengambilan alikuot, volume medium yang terambil (dapar fosfat pH 7,4) digantikan dengan larutan medium yang baru dengan volume dan suhu yang sama. Masing-masing alikuot disaring dan sampel dianalisa menggunakan metode spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum 673,6 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Kadar Fenolik Total Ekstrak Bawang Dayak

Ekstrak bawang dayak mengandung fenolik total (setara asam galat) sebesar 7,77 %b/b.

3.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Dayak

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak umbi bawang dayak menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). Hasil menunjukkan semakin rendah nilai serapan yang terukur maka semakin tinggi aktivitas

penghambatan radikal bebasnya. Aktivitas penjerapan DPPH dari ekstrak umbi bawang dayak dapat dilihat pada tabel 4 dan 5, yaitu nilai IC₅₀ dari ekstrak umbi bawang dayak dan asam askorbat masing-masing adalah sebesar 25,66 µg/ml dan 3,70 µg/ml.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak bawang dayak

Konsentrasi (bpj)	Log konsentrasi	% inhibisi ± SD*	Nilai probit ± SD*	IC ₅₀ (µg/ml)
20	1,30	41,79 ± 0,28	4,76 ± 0,01	25,66
40	1,60	64,11 ± 0,27	5,36 ± 0,01	
60	1,77	73,58 ± 0,05	5,63 ± 0,00	
80	1,90	78,67 ± 0,21	5,79 ± 0,01	
100	2,00	83,14 ± 0,41	5,96 ± 0,02	

*SD = Standar Deviasi

Tabel 3. Aktivitas antioksidan asam askorbat (kontrol positif)

Konsentrasi (bpj)	Log konsentrasi	% inhibisi ± SD*	Nilai probit ± SD*	IC ₅₀ (µg/ml)
2,5	0,39	28.563 ± 2,86	4,43 ± 0,08	3,70
5	0,69	64.563 ± 1,47	5,38 ± 0,03	
7,5	0,87	86.170 ± 1,62	6,09 ± 0,07	
10	1,00	90.183 ± 0,39	6,29 ± 0,02	
12,5	1,09	90.563 ± 0,52	6,39 ± 0,02	

*SD = Standar Deviasi

Hasil analisis statistik ANOVA satu arah menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata ($\alpha < 0,01$) antara nilai IC₅₀ ekstrak bawang dayak dengan nilai IC₅₀ kontrol positif asam askorbat.

3.4 Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak

Pada penelitian ini dibuat tiga jenis formula nanopartikel dengan variasi konsentrasi kombinasi polimer kitosan dan tripolifosfat. Pencampuran polimer kitosan dan tripolifosfat akan menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amino kitosan dengan muatan negatif dari tripolifosfat. Dimana konsentrasi antara polimer kitosan dan

tripolifosfat yang digunakan dapat mempengaruhi karakteristik fisik dari nanopartikel.

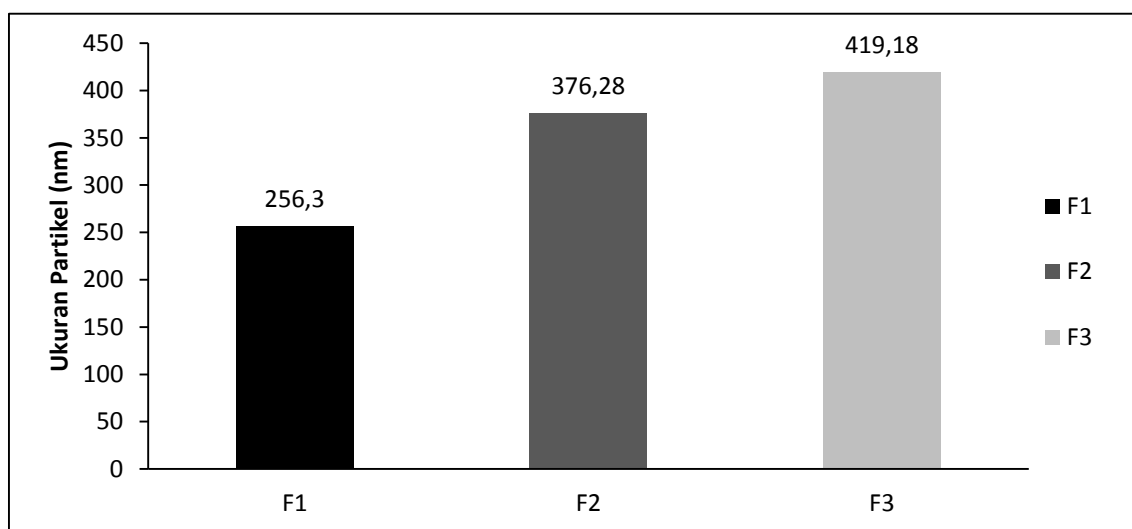
Variasi perbandingan konsentrasi antara kitosan dan tripolifosfat (TPP) yang digunakan sebagaimana pada metodologi yaitu kitosan 0,5% dan TPP 0,5% yang dinyatakan sebagai formula F1, kitosan 0,75% dan TPP 0,5% sebagai F2, kitosan 1% dan TPP 0,5 % sebagai F3. Penggunaan rasio 5 : 1 antara berat kitosan dan TPP didasarkan pada penelitian oleh Zhang (2004) bahwa dengan meningkatkan rasio kitosan dan TPP, akan dihasilkan nanopartikel dengan ukuran yang lebih kecil. Dimana rasio optimal antara kitosan dan TPP adalah 5:1 b/b, yang mungkin berkaitan dengan fakta

bahwa TPP adalah poli-fungsional agen *cross-linking* dan dapat menciptakan lima ikatan silang ionik dengan gugus amin dari kitosan. Rasio Kitosan : TPP (5:1) juga menghasilkan efisiensi penjerapan paling baik dan nanopartikel dengan struktur partikel kompak (15).

Karakteristik fisik dari nanopartikel bawang dayak diuji dengan penentuan ukuran nanopartikel yang diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan hasil morfologi partikel dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Dari data diketahui bahwa ukuran partikel dari ketiga formula yang diperoleh menunjukkan bahwa ukuran partikel dari nanopartikel ekstrak bawang dayak F1, F2, dan F3 berturut-turut adalah 256,30

nm, 376,28 nm dan 419,18 nm. Secara umum dari ketiga hasil masih memasuki rentang ukuran nanopartikel yaitu 10-1000 nm (16). Data mengenai ukuran partikel ini sesuai dengan penelitian Calvo, dkk (1997) bahwa nanopartikel kitosan - tripolifosfat yang dibuat dengan metode gelasi ionik menghasilkan ukuran partikel antara 200-500 nm (17).

Dari hasil penelitian yang ditampilkan pada gambar 8 diketahui bahwa ada keterkaitan antara konsentrasi kitosan dan tripolifosfat yang digunakan dengan ukuran nanopartikel yang terbentuk. Semakin besar konsentrasi kitosan dan tripolifosfat yang digunakan maka semakin besar pula ukuran partikel yang dihasilkan (18).



Gambar 1. Grafik ukuran partikel dari nanopartikel F1 (Kitosan 0,5% dan TPP 0,5%), F2(Kitosan 0,75% dan TPP 0,5%), dan F3 (Kitosan 1% dan TPP 0,5%)

Faktor lainnya yang mempengaruhi ukuran nanopartikel adalah pH. Perbedaan pH berpengaruh pada jumlah ion amin yang akan terprotonasi. Pada pembuatan nanopartikel, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan maka pH yang dihasilkan semakin kecil dan semakin besar pula ukuran partikel

yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hui liu (2008) yang menunjukkan bahwa besar pH sangat mempengaruhi ukuran dari nanopartikel. Pada rentang pH 3,5-5,5 ukuran nanopartikel semakin kecil seiring dengan semakin tingginya nilai pH (19).

Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas.

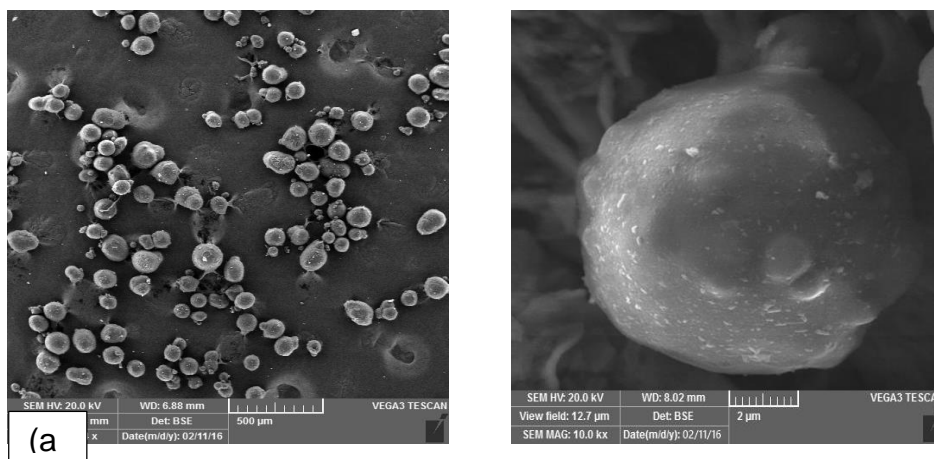
Hasil indeks polidispersitas dari nanopartikel F1, F2, dan F3 adalah 0,2570; 0,3420; dan 0,2880. Hasil dari ketiga formula ini memiliki indeks

polidispersitas sekitar 0,2-0,3 sehingga ketiga formula menunjukkan dispersi ukuran yang relatif homogen.

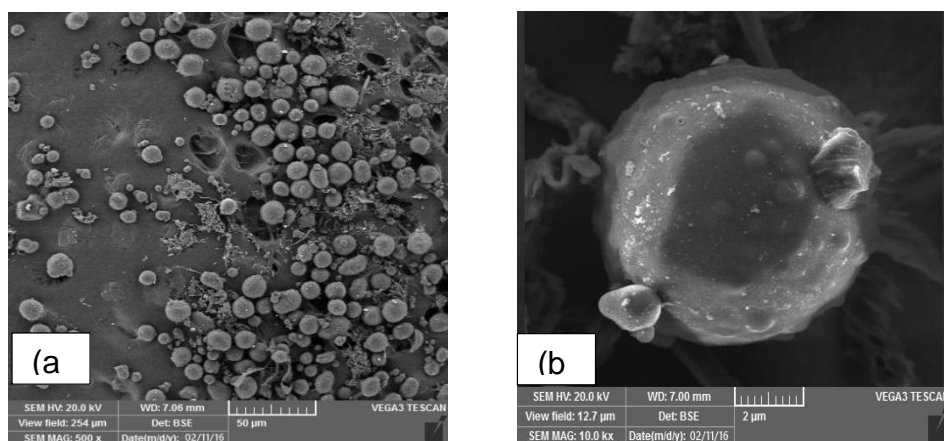
Tabel 4. Ukuran dan indeks polidispersitas dari nanopartikel ekstrak bawang dayak

Sampel	pH	Ukuran partikel (nm)	Indeks Polidispersitas
F1 (Kitosan 0,5 % dan TPP 0,5 %)	5,02	256,30	0,2570
F2 (Kitosan 0,75 % dan TPP 0,5 %)	4,54	376,28	0,3420
F3 (Kitosan 1 % dan TPP 0,5 %)	3,97	419,18	0,2880

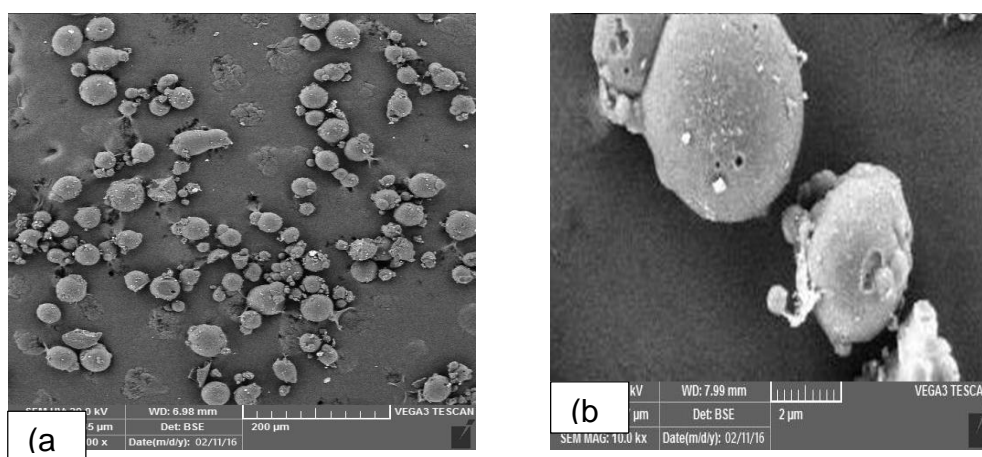
Hasil morfologi partikel yang diamati menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak bawang dayak dari ketiga formula memiliki permukaan yang kasar. Permukaan yang kasar tersebut kemungkinan disebabkan oleh proses *coating* dengan logam emas yang kurang baik pada saat preparasi sampel untuk pengujian dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).



Gambar 2. Hasil SEM Morfologi Nanopartikel F1 (a) perbesaran 500x (b) perbesaran 10000x



Gambar 3. Hasil SEM Morfologi Nanopartikel F2 (a) perbesaran 200x (b) perbesaran 10000x



Gambar 4. Hasil SEM Morfologi Nanopartikel F3 (a) perbesaran 200x (b) perbesaran 10000x

Evaluasi lainnya yang dilakukan adalah pengukuran efisiensi penjerapan dari nanopartikel dengan tujuan untuk mengetahui gambaran tentang jumlah obat yang berhasil terperangkap / diserap kedalam nanopartikel. Berdasarkan hasil pengukuran efisiensi penjerapan dari ketiga formula, F3 memiliki efisiensi

penjerapan yang paling tinggi kemudian F2, sedangkan F1 menunjukkan efisiensi penjerapan yang paling rendah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah polimer yang digunakan, maka semakin tinggi juga efisiensi penjerapan dari nanopartikel.

Tabel 5. Efisiensi penyerapan dari nanopartikel ekstrak bawang dayak

Sampel	Kadar Fenolik Total (%b/b) \pm SD	Efisiensi Penyerapan (%) \pm SD
F1 (Kitosan 0,5 % dan TPP 0,5 %)	5,40 \pm 0,30	69,54 \pm 3,16
F2 (Kitosan 0,75 % dan TPP 0,5 %)	5,97 \pm 0,02	77,51 \pm 0,26
F3 (Kitosan 1 % dan TPP 0,5 %)	6,20 \pm 0,05	79,79 \pm 0,52

*SD = Standar Deviasi

Selanjutnya, dilakukan uji disolusi terhadap nanopartikel ekstrak bawang dayak dengan menggunakan medium dapar

fosfat pH 7,4 dan dilakukan pencuplikan sebanyak 10 ml pada waktu disolusi 0,5 jam, 1 jam, 2 jam, 4 jam dan 8 jam.

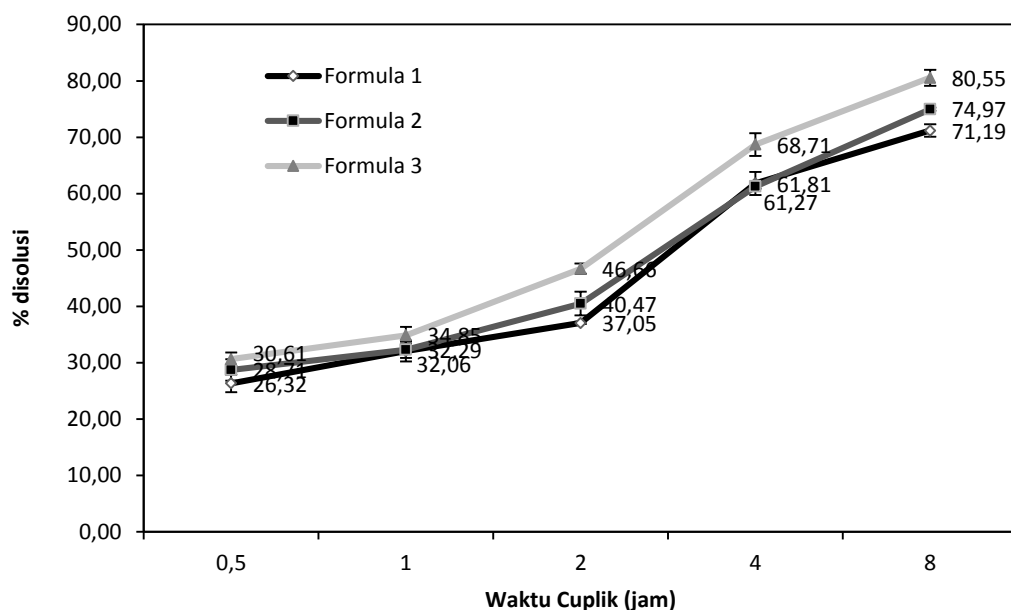
Tabel 6. Persen disolusi nanopartikel ekstrak bawang dayak

FORMULA 1		FORMULA 2		FORMULA 3	
Waktu (jam)	% Disolusi \pm SD	Waktu (jam)	% Disolusi \pm SD	Waktu (jam)	% Disolusi \pm SD
0.5	26,32 \pm 1,57	0.5	28,71 \pm 1,90	0.5	30,61 \pm 1,19
1	32,06 \pm 1,84	1	32,29 \pm 1,45	1	34,85 \pm 1,50
2	37,05 \pm 0,21	2	40,47 \pm 2,10	2	46,66 \pm 0,91
4	61,81 \pm 2,04	4	61,27 \pm 0,40	4	68,71 \pm 2,01
8	71,19 \pm 1,11	8	74,97 \pm 0,30	8	80,55 \pm 1,42

*SD = Standar Deviasi

Hasil uji disolusi dari tiap formula dapat dilihat pada gambar 5 dan hasilnya menunjukkan bahwa nanopartikel F3 dengan konsentrasi polimer yang paling besar menunjukkan profil pelepasan lebih besar dibanding dengan F1 ataupun F2. Sifat kimia dan fisik dari polimer diketahui

mempengaruhi profil pelepasan dari obat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dunne (2000) diketahui bahwa partikel dengan ukuran yang lebih besar akan memberikan kontribusi untuk polimer penyalut lebih cepat mengalami degradasi yang menyebabkan semakin besarnya juga pelepasan obat (20).



Gambar 5. Grafik persen disolusi nanopartikel F1, F2, dan F3

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bawang dayak dapat diformulasi dalam ukuran nanopartikel dengan karakteristik fisik yang bervariasi tergantung pada konsentrasi kitosan dan tripolifosfat yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Febrinda AE, Astawan M, Wresdiyati T dan Yuliana ND. Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glucosidase ekstrak umbi bawang dayak. *Jurnal teknologi dan Industri Pangan*. 2013. 24 (2); pp. 161-167.
2. Kuntorini EM, Astuti MD. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr). *Sains dan Terapan Kimia*. 2010. 4 (1); pp. 15 – 22.
3. Ifesan B, Ibrahim D dan Voravuthikunchai SP. Antimicrobial Activity of Crude Ethanolic Extract From *Eleutherine americana*. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 2010. 8 (3 & 4); pp. 1233-1236.
4. Fitri Y, Rosidah dan Suwarso E. Effects of inhibition cell cycle an apoptosis of sabrang onion extract (*Eleuthetine bulbosa* (Mill.) Urb.) on breast cancer cells. *International Journal of PharmTech Research*. 2014. 6 (4); pp. 1392-1396.
5. Pratiwi D, Wahdaningsih S, Isnindar. The Test of Antioxidant Activity from Bawang Mekah Leaves (*Eleutherine americana* Merr.) using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method. *Traditional Medicine Journal*. 2013. 18 (1); pp. 9-16.
6. Ridwan I. Pengaruh Konsentrasi Cairan Penyari Etanol Terhadap Kadar Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr). *Skripsi Program Studi Farmasi*

- Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2015.
7. Martien R, Adhyatmika, Iramie DK, Farida V, Purwita SD. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*. 2012. 8(1); pp. 133-144.
8. Dewandari KT, Yuliani S, Yasni S. Ekstraksi dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pascapanen*. 2013. 10(2); pp. 58-65.
9. Kaban J, Bangun HD, Asteria KD. Pembuatan Membran Kompleks Polielektrolit Alginat Kitosan. *Jurnal Sains Kimia*. 2006. 10 (1); pp. 10-16.
10. Shu XZ, Zhu KJ. Controlled Drug Release properties of ionically Cross-linked chitosan beads : The influence of anion structure. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002. 233 (1-2); pp. 217-255.
11. Liu H, Gao C. Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles. *Polymers for Advance Technologies*. 2009. 20 (7); pp. 613-619.
12. Wang N, Zhang M. Chitosan-Based Hydrogels for Controlled, Localized Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Review*. 2010. 9 (1); pp. 83-99.
13. Anggasari N, Alauhdin M, Tri AP, Sintesis dan Karakterisasi Membran Kitosan-Tripolifosfat sebagai Alternatif Pengontrol Sistem Pelepasan Obat. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 2013. 2 (3); pp. 190-193.
14. Stoica R, Şomoghi R, Ion RM. Preparation of Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles For The Encapsulation of Polyphenols Extracted From Rose Hips. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2013. 8 (3); pp. 955 – 963.
15. Zhang H, Allen, C, Kumacheva, E. Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules*. 2004. 5; p. 2461.
16. Calvo P, Remun˜an-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm Res*. 1997.14; pp.1431- 1436.
17. Swarbrick J. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 3rd ed. Vol. 4. Informa Healthcare USA Inc : New York. 2007.
18. Tiyaaboonchai, W. Chitosan Nanoparticles: A Promising System for Drug Delivery. *Naresuan University Journal*. 2003. 11(3); pp. 51-66.
19. Liu H, Changyou G. Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles. *Polym. Adv. Technol*. 2009. 20; pp. 613-619.
20. Dunne M, Corrigan OI, Ramtoola Z. Influence of particle size and dissolution conditions on the degradation properties of polylactide-co-glycolide particles. *Biomaterials*. 2000. 21; pp. 1659-1668.